

青海高原二种双腔吸虫尾蚴腺体 组织化学的比较观察

唐崇惕 唐仲璋 唐亮

(厦门大学生物学系寄生动物研究室, 福建)

崔贵文

(内蒙古呼伦贝尔盟畜牧兽医研究所, 海拉尔)

内 容 提 要

本文报道应用组织化学反应方法观察了青海高原中华双腔吸虫尾蚴及暂称为“B”型双腔尾蚴(可能是枝双腔尾蚴)二种单细胞腺体的组化成分及其生理功能。大单细胞腺体12—13对, 内含丰富的碳水化合物——蛋白质复合物象粘蛋白之类物质, 及酸性粘多糖。小单细胞腺体3对, 含结合氨基的蛋白质及中性糖蛋白。二种双腔吸虫在贝类宿主体内子胞蚴及尾蚴组化成分很相似但从尾蚴粘液腺的结构可以区分二虫种。中华双腔吸虫粘球内包绕在尾蚴体外的粘液含丰富的粘蛋白。双腔吸虫幼虫期组化成分与阔盘吸虫相应的幼虫期进行了比较。

作者曾应用组织化学反应方法阐明了腔阔盘吸虫(*Eurytrema coelomaticum*)尾蚴二种单细胞腺的组化成分及其功能(唐崇惕等, 1987)。双腔吸虫(*Dicrocoelium* spp.)与阔盘吸虫同隶于双腔科(*Dicrocoeliidae*), 但其尾蚴不仅形态及体内二种单细胞腺数目与阔盘吸虫尾蚴有差异, 而且在生理特性上有很大区别。阔盘吸虫尾蚴成熟后包被在子胞蚴体中被排到贝类宿主体外; 双腔吸虫尾蚴在贝类宿主体内离开子胞蚴, 形成粘球后被排到外界。为了要了解双腔吸虫幼虫期的组化成分与阔盘吸虫有何异同而开展了本项研究工作。我国青海高原经调查发现四种寄生于牛羊的双腔吸虫, 在它们的流行区也查获4种形态结构有显著差异的双腔吸虫尾蚴(唐崇惕等, 1984、1985)。其中以中华双腔吸虫及枝双腔吸虫流行最广泛而严重。为了要了解不同形态特征的双腔吸虫尾蚴, 它们的组化成分是否有差别, 我们采用中华双腔吸虫及枝双腔吸虫流行区阳性螺体中的中华双腔吸虫幼虫期及暂称为“B”型双腔尾蚴(可能是枝双腔尾蚴, 尚待实验证实)为材料进行试验观察。结果发现双腔吸虫在贝类宿主体内各幼虫期与阔盘吸虫幼虫期有相同点, 但也有差别; 两种双腔吸虫尾蚴之间也有可区别的特点, 兹简介于后。

材 料 和 方 法

含有成熟的中华双腔吸虫尾蚴及“B”型双腔尾蚴阳性的蜗牛, *Helicella candacharia*, 采自青海乐都海拔约4000米的药草台牧场。中华双腔吸虫粘球是从内蒙科尔沁草原阳性枝小丽螺(*Ganesella virgo*)

本文于1985年4月收到。

表 1 中华双腔吸虫及 'B' 型双腔吸虫的尾蚴及尾蚴组织化学反应的比较结果
(The results of comparative histochemical observations on the cercaria of *Dicrocoelium chinensis* and 'B' type microcoelid cercaria and the daughter sporocysts of the both species)

观察部位 (Portions examined)	试验 (Experiments) 由种 (Species)	PAS (Amylase-PAS)(照片 4,5)		麦尔蓝—PAS (照片 1,3)		茜三酮(照片 2) (Niahydrtin-Schiff)		汞溴酚蓝 (Mercury-Bromphenol-Blue)	
		<i>D. chinensis</i> cercaria	'B' type microcoelid cercaria	<i>D. chinensis</i> cercaria	'B' type microcoelid cercaria	<i>D. chinensis</i> cercaria	'B' type microcoelid cercaria	<i>D. chinensis</i> cercaria	'B' type microcoelid cercaria
子胞幼虫壁 (Body wall of daughter sporocyst)		+++ 紫红色 (Purple)	++ 紫红色 (Purple)	+++ 紫红色 (Purple)	+++ 紫红色 (Purple)	+++ 紫红色 (Purple)	+++ 紫红色 (Purple)	+++ 紫红色 (Purple)	+++ 紫红色 (Purple)
大单细胞腺细胞 (Larger unicellular gland cells)		+++ 紫红色 (Purple)	++ 紫红色 (Purple)	+++ 紫红色 (Purple)	+++ 紫红色 (Purple)	+++ 紫红色 (Purple)	+++ 紫红色 (Purple)	+++ 紫红色 (Purple)	+++ 紫红色 (Purple)
小单细胞腺细胞 (Small unicellular gland cells)		+++ 紫红色 (Purple)	++ 紫红色 (Purple)	+++ 紫红色 (Purple)	+++ 紫红色 (Purple)	+++ 紫红色 (Purple)	+++ 紫红色 (Purple)	+++ 紫红色 (Purple)	+++ 紫红色 (Purple)
皮层 (Tegument)		+++ 紫红色 (Purple)	++ 紫红色 (Purple)	+++ 紫红色 (Purple)	+++ 紫红色 (Purple)	+++ 紫红色 (Purple)	+++ 紫红色 (Purple)	+++ 紫红色 (Purple)	+++ 紫红色 (Purple)
体细胞 (Body cells)		+++ 紫红色 (Purple)	++ 紫红色 (Purple)	+++ 紫红色 (Purple)	+++ 紫红色 (Purple)	+++ 紫红色 (Purple)	+++ 紫红色 (Purple)	+++ 紫红色 (Purple)	+++ 紫红色 (Purple)
口、腹吸盘 (Suckers)		+++ 紫红色 (Purple)	++ 紫红色 (Purple)	+++ 紫红色 (Purple)	+++ 紫红色 (Purple)	+++ 紫红色 (Purple)	+++ 紫红色 (Purple)	+++ 紫红色 (Purple)	+++ 紫红色 (Purple)
皮层 (Tegument)		+++ 紫红色 (Purple)	++ 紫红色 (Purple)	+++ 紫红色 (Purple)	+++ 紫红色 (Purple)	+++ 紫红色 (Purple)	+++ 紫红色 (Purple)	+++ 紫红色 (Purple)	+++ 紫红色 (Purple)
细胞 (Cells)		+++ 紫红色 (Purple)	++ 紫红色 (Purple)	+++ 紫红色 (Purple)	+++ 紫红色 (Purple)	+++ 紫红色 (Purple)	+++ 紫红色 (Purple)	+++ 紫红色 (Purple)	+++ 紫红色 (Purple)
生殖原基 (Genital primordia)		+++ 紫红色 (Purple)	++ 紫红色 (Purple)	+++ 紫红色 (Purple)	+++ 紫红色 (Purple)	+++ 紫红色 (Purple)	+++ 紫红色 (Purple)	+++ 紫红色 (Purple)	+++ 紫红色 (Purple)
排泄囊腺细胞 (Excretory bladder wall)		+++ 紫红色 (Purple)	++ 紫红色 (Purple)	+++ 紫红色 (Purple)	+++ 紫红色 (Purple)	+++ 紫红色 (Purple)	+++ 紫红色 (Purple)	+++ 紫红色 (Purple)	+++ 紫红色 (Purple)

排出。青海阳性蜗牛用 10% 福尔麻林、Carnoy 氏固定液或 70% 乙醇固定。石蜡切片后分别用 PAS (及淀粉酶消化——PAS 反应)、爱尔蓝——PAS、茜三酮及汞溴酚蓝等组化试剂进行染色制片。制片后的玻片标本经观察, 并进行拍照照片。粘球包埋在琼胶中然后应用粘溶脂法进行染色制片、观察。

观 察 结 果

双腔吸虫子胞蚴具生产孔、尾蚴成熟后随时可经生产孔逸出到蜗牛的气室。子胞蚴体内含胚细胞、胚球、尾蚴胚胎及尾蚴等不同发育的个体。经组化反应制成的玻片标本, 阳性蜗牛肝脏中的双腔吸虫子胞蚴体内杂乱地含有不同形态、大小及颜色的个体。这与阔盘吸虫在贝类宿主体内不同发育期子胞蚴形态及组化颜色反应可明显区别情况不同。

通过组化反应测试结果(见表)说明双腔吸虫在贝类宿主体内各幼虫期组化成分与阔盘吸虫相应的幼虫期十分相似, 但亦有差别。如子胞蚴体壁在双腔吸虫只一薄层, 内含糖蛋白(图版 I:5), 但也含少量酸性粘多糖(图版 I:1); 而阔盘吸虫子胞蚴体壁分为含中性糖蛋白的外壁和含酸性粘多糖的内壁。在双腔吸虫子胞蚴整个生存期间未见有尾蚴腺体分泌物充满胞蚴体内腔隙中(图版 I:1、5)。

双腔吸虫尾蚴体部皮层含少量中性糖蛋白(图版 I:3), 尾部皮层含酸性粘多糖及糖蛋白(图版 I:1、5)。尾蚴体部细胞包括二吸盘上的细胞及排泄囊壁细胞均含有糖蛋白(图版 I:4)及少量中性糖蛋白(图版 I:1、3)。尾蚴的大单细胞腺占满体部的大部分, 其内容物在 PAS 及淀粉酶——PAS 反应中均呈强阳性反应说明含有丰富的碳水化合物——蛋白质的复合物(Carbohydrate-protein complexes), 如粘蛋白之类物质(Leblond *et al.*, 1957); 此腺体在爱尔蓝——PAS 反应中显示甚强的蓝色(图版 I:1、3)说明其中亦含有丰富的酸性粘多糖。这一情况与阔盘吸虫相同。双腔吸虫尾蚴的小单细胞腺体亦与阔盘吸虫相似, 含中性糖蛋白(图版 I:3)及结合氨基(NH₂)的蛋白质(图版 I:2)。此结合氨基的蛋白质在大单细胞腺细胞中只见于细胞核(图版 I:2)。此物质亦见于体细胞、吸盘、排泄囊壁细胞及生殖原基细胞的细胞核(图版 I:2)。由于酶与蛋白质对茚三酮组化反应显示同样的颜色, 我们推测尾蚴的小单细胞腺可能是含酶物质的穿刺腺。其分泌物可能是当尾蚴进入其昆虫宿主蚂蚁胃中穿钻胃壁时才分泌出溶解胃壁组织, 使尾蚴体部能顺利地进入蚂蚁腹腔中继续进一步的发育, 有的侵入蚂蚁脑中形成“脑虫”, 中华双腔吸虫“脑虫”在黑玉蚂蚁(*Formica gagates*)的亚食道神经节寄生(图版 I:6)。因此本吸虫阳性蚂蚁常有用其口器咬住草叶呆立不动的异常行为, 亦因此而增加牛羊受感染的机会。

汞溴酚蓝反应结果表明碱性蛋白质在某些部位含量极微。尾蚴尾部在活体状态下由光学显微镜可见其由一些形状不定的大细胞组合着, 但本文所用各组化反应, 除只见一些细胞间隔外, 内中不见有物质(图版 I:1、5)。

中华双腔吸虫粘球是包裹尾蚴无数的粘液团, 经固定包埋在琼胶中后应用粘液脂法染色, 内中尾蚴呈阴性反应, 而其外围粘液呈强阳性反应。表明粘球中的粘液物质是糖蛋白, 是和尾蚴大粘液腺内含物相同的物质。此物质在阔盘吸虫子胞蚴从贝类宿主排出到外界时, 从其尾蚴粘液腺分泌出充满子胞蚴内囊腔、包被着各尾蚴(唐崇惕等, 1987); 在

双腔吸虫尾蚴其粘液腺分泌的含丰富糖蛋白、酸性粘多糖的粘液形成粘球。在实验室试验中见到蚂蚁非常嗜食这些粘球。

中华双腔吸虫和“B”型双腔(可能是枝双腔吸虫)的子胞蚴及尾蚴的各部位的组化成分均相同,但它们尾蚴的大单细胞腺——粘液腺的腺细胞内腺体物质的结构有所不同,中华双腔吸虫尾蚴粘液腺呈密集的云雾状(图版 1:1、5);而“B”型双腔尾蚴的粘液腺体物质呈颗粒状分布(图版 1:3、4)。

讨 论

双腔吸虫与阔盘吸虫是同一科中不同属的种类,所以在它们的生活史中,各发育阶段存在共同之处,但各自有其独特区别点。尤其在尾蚴离开贝类宿主的行为,逗留在外界环境中的形式,以及进入到昆虫宿主后的情况都有差异。双腔吸虫尾蚴到外界后无阔盘吸虫尾蚴那样有子胞蚴身体给予保护,但它具有比阔盘吸虫尾蚴更多的粘液腺(前者 12—13 对、后者只有 5 对)。通过组化方法的观察,说明此二属虫种的尾蚴体上的粘液腺腺体物质均是含很丰富的糖蛋白及酸性粘多糖物质,它们均借此结构的功能来适应它们在生活史中宿主变更的过程。双腔吸虫尾蚴借粘球的保护使其能在外界生活期间免受干燥等不良因素的侵害,能有机会进入第二中间宿主继续其下一阶段的发育。虫体在蚂蚁宿主脑部神经节寄生,使阳性蚂蚁产生异常行为。中华双腔吸虫“脑虫”在蚂蚁亚食道神经节(图版 1:6),使阳性蚂蚁长时间在巢外用口器紧咬草叶呆立不动,使牛羊容易受感染。阳性的黑玉蚂蚁如此的异常行为使其体中的中华双腔吸虫后蚴更有机会进入终末宿主体内完成其全程生活史。

在青海高原 4 种双腔吸虫流行区的陆地蜗牛体内发现有 4 种不同形态特点的双腔吸虫尾蚴(唐崇惕等, 1984、1985)。本项工作从组化反应方法说明中华双腔吸虫尾蚴与“B”型双腔尾蚴在粘液腺体的结构上亦有差异。有关矛形双腔吸虫(*Dicrocoelium lanceatum*)尾蚴及“D”型双腔尾蚴(可能是客双腔吸虫(*D. hospes*)的尾蚴)粘液腺等的组化成分及结构情况如何有待继续研究。

参 考 文 献

- 唐崇惕、唐亮、唐仲璋 1984 青海高原中华双腔吸虫等四种双腔吸虫成熟尾蚴的扫描电镜比较观察 动物学报 30 (3):227—230。
唐崇惕等 1985 青海高原中华双腔吸虫病病原生物学的初步调查。动物学报 31(3):254—262。
唐崇惕等 1987 阔盘吸虫尾蚴及后蚴穿刺腺等腺体组织化学及其功能的初步观察 动物学报 33(2): 155—161。
Leblond, C. P., R. E. Glegg and D. Eiding 1957 Presence of carbohydrates with free 1, 2-glycol groups in sites stained by the Periodic Acid-Schiff technique. J. Histochem. Cytochem. 5 (5): 445—458.

外 文 摘 要 (Abstract)

COMPARATIVE HISTOCHEMICAL INVESTIGATIONS ON THE
GLANDS OF TWO SPECIES OF DICROCOELID CERCARIA
FROM QINGHAI PLATEAU

TANG CHONGAI TANG ZHONGZHANG (C. C. TANG) Tang LIANG

(Parasitology Research Laboratory, Xiamen University, Fujian)

CUI GUIWEN

(Hulunbeier Institute of Animal Husbandry and Veterinary Science, Nei Menggu Autonomous Region)

This paper reports the results of comparative histochemical observations on the unicellular glands with ducts in two species of dicrocoelid cercariae from Qinghai Plateau. Completely developed sporocysts and cercariae of *Dicrocoelium chinensis* and 'B' type dicrocoelid cercaria (probably *D. dendriticum*) were obtained from naturally infected land snails, *Helicella candacharia*, collected from endemic area. Histochemical techniques used in this investigation. Periodic acid Schiff (PAS) (with and without amylase digestion); Alcian-Blue-PAS; Mercury bromophenol blue (HgBPB) and Ninhydrin Schiff.

Dicrocoelid cercariae have two kinds of unicellular glands with ducts, like those in *Eurytrema* cercaria. These glands consist of three pairs of small penetration glands situated on both sides of oesophagus, and 12—13 pairs of large mucosubstance glands filling almost all the spaces of body from acetabulum to the posterior end. The chemical compositions of these two kinds of glands are very similar to those of *Eurytrema coelomaticum*. The medial penetration glands contain mainly protein bound amine (NH₂) (probably also enzymes) and neutral mucopolysaccharides. The mucosubstance glands of the mature cercariae in daughter sporocysts were not observed to secrete their glandular material into sporocyst cavities. In our study it was postulated that the mucosubstances constituting the slime balls surrounding the cercariae, are really the secretions of the larger gland cells. Their function is to protect the cercariae against dryness in the outside environment, and the slime balls are also agreeable to the palate of insect host.

The glandular mucosubstances in cercariae of *D. chinensis* and those of the 'B' type dicrocoelid cercariae are different in structure. In the former species the material forming mucosubstance in the gland cells to be cloudy, while in the latter species the mucosubstance is granular in appearance.

Key words: *Dicrocoelium chinensis*, 'B' type dicrocoelid cercaria (may be *D. dendriticum*), Histochemical studies, Mucosubstance gland, Penetration gland.

图 版 说 明

- 中华双腔吸虫子胞蚴的一部分示胞蚴壁及尾蚴的粘液腺 (A portion of daughter sporocyst of *D. chinensis*, showing the body wall of daughter sporocyst and the mucosubstance gland of cercariae) (Alcian-Blue-PAS) $\times 160$
2. “B”型双腔尾蚴体前部, 示生殖原基、穿刺腺及粘液腺 (The fore part of a “B” type microcoelid cercaria, showing genital primordia penetration glands and mucosubstance glands) (Ninhydrin-Schiff) $\times 400$
3. “B”型双腔尾蚴, 示粘液腺及穿刺腺 (A “B” type microcoelid cercaria, showing the mucosubstance glands and penetration glands) (Alcian-Blue-PAS) $\times 400$
4. “B”型双腔尾蚴, 示粘液腺、生殖原基及排泄囊壁等 (A “B” type microcoelid cercaria, showing the mucosubstance glands, genital primordia and excretory bladder wall) (Amylase-PAS) $\times 400$
5. 中华双腔吸虫子胞蚴的一部分, 示胞蚴壁及尾蚴的粘液腺 (A portion of daughter sporocyst of *D. chinensis*, showing the body wall of daughter sporocyst and the mucosubstance glands of cercariae) (Amylase-PAS) $\times 160$
6. 在黑玉蚂蚁亚食道神经节中的中华双腔吸虫后蚴(“脑虫”) [The metacercaria (“Brain worm”) of *D. chinensis* in the subesophageal ganglion of *Formica gagates* Haematoxylin] $\times 160$
- a: 腹吸盘 (Acetabulum); ag: 触角神经节 (Antennal ganglion);
 b: “脑虫”(中华双腔吸虫后蚴) [“Brain worm” (metacercaria of *D. chinensis*)];
 c: 排泄囊壁 (Excretory bladder wall); em: 尾蚴胚体 (Embryo of cercaria);
 g: 生殖原基 (Genital primordia); mg: 粘液腺 (Mucosubstance gland);
 o: 口吸盘 (Oral sucker); og: 眼神经节 (Optic ganglion);
 pg: 穿刺腺 (Penetration gland); sg: 亚食道神经节 (Subesophageal ganglion);
 t: 尾蚴的尾部 (Tail of cercaria);
 w: 双腔吸虫子胞蚴的胞壁 (Body wall of daughter sporocyst).